

Universitat Politècnica de Catalunya
Escola Superior d'Agricultura de Barcelona
Especialitat Indústries Agràries i Alimentàries

ESTUDI DEL CREIXEMENT I LA PRODUCCIÓ DE
***Pleurotus ostreatus* H9 EN DIVERSOS SUBSTRATS**

Treball Final de Carrera presentat per:

Nuria Rey Huerga

Professors tutors:

M. Teresa Mas Serra

A.M.C. Verdú González

Convocatòria: Gener 2007
CASTELLDEFELS (Campus Baix Llobregat)

AGRAÏMENTS

En primer lloc, m'agradaria agrair a la Maite, al Claret i a la Montse, l'ajut, dedicació i ànims que m'han donat.

També a la meva mare per la paciència que ha tingut i les hores que ha dedicat a revisar-me el treball.

Al Carlo, per escoltar-me, per ajudar-me i per les seves revisions d'anglès.

A la Belén i en Tini per les seves teràpies en grup al Refu i per ensenyar-me que la informàtica no és tant complicada.

A la Toñi per tot lo que m'ha ensenyat aquests tres mesos de beca i tot lo que m'ha animat.

I al meu company Kiko, per la feina feta junts, pels mesos de laboratori, per netejar els pots més fastigosos i per ser un bon amic. (Ànims, ara et toca a tu).

ESTUDI DEL CREIXEMENT I LA PRODUCCIÓ DE *Pleurotus ostreatus* H9 EN DIVERSOS SUBSTRATS

AUTORA: Rey Huerga, Nuria.

TUTORS: Mas Serra, M. Teresa
Verdú, Antoni M.C.

L'objectiu principal d'aquest treball és estudiar el creixement i la producció de gírgoles (*Pleurotus ostreatus*) en diversos substrats com són: palla (substrat control), encenalls, polpa de poma, pasta de soja i purins. Barrejant aquests elements en diferents percentatges es van obtenir les 35 combinacions de substrats amb 3 rèpliques de cadascuna. El propòsit era aclarir quin és el substrat òptim per al cultiu i la producció de gírgoles.

Per dur a terme aquesta experiència es va inocular la varietat H9 de *Pleurotus ostreatus* en els 105 pots que contenien els diferents substrats i es van incubar amb absència de llum a una temperatura de 25-28°C durant uns 40 dies (fins que el miceli va compactar i colonitzar el substrat). Periòdicament es va estimar el creixement micel·liar mitjançant fotografies. Tot seguit, es van portar a una cambra frigorífica a 15 °C per donar-los-hi un cop de fred i després a un laboratori, a temperatura ambient. Durant aquest temps els bolets van créixer i a mida que assolien les mides i pesos estàndar es tallaven, es pesaven i s'assecaven.

Els resultats obtinguts permeten concloure que els substrats que contenen poma suporten un creixement micel·liar i una producció de bolets més elevada que la resta. Els substrats que contenen pasta de soja no han permès la producció i, en molts casos, ni tan sols el creixement del fong. La presència de purí no afecta ni al creixement micel·liar ni a la producció de la soca provada.

PARAULES CLAU: *Pleurotus ostreatus*, substrat, creixement, producció.

ESTUDIO DEL CRECIMIENTO Y LA PRODUCCION DE *Pleurotus ostreatus* H9 EN DIFERENTES SUSTRATOS

AUTORA: Rey Huerga, Nuria.

TUTORES: Mas Serra, M. Teresa
Verdú, Antoni M.C.

El objetivo principal de este trabajo es estudiar el crecimiento y la producción de setas de ostra (*Pleurotus ostreatus*) en diversos sustratos como son: paja (sustrato control), virutas de madera, pulpa de manzana, pasta de soja y purín. Mezclando estos elementos en diferentes porcentajes se obtuvieron las 35 combinaciones de sustratos con 3 réplicas de cada una. El propósito fue dilucidar cuál es el sustrato óptimo para el cultivo y la producción de setas.

Para llevar a cabo esta experiencia se inoculó la variedad H9 de *Pleurotus ostreatus* en los 105 botes que contenían los diferentes sustratos y se incubaron con ausencia de luz a una temperatura de 25-28°C durante unos 40 días (hasta que el micelio compactó y colonizó el sustrato). Periódicamente se estimó el crecimiento micelial mediante fotografías. Acto seguido, se llevaron a una cámara frigorífica en 15 °C para someterlos a bajas temperaturas, y después a un laboratorio, a temperatura ambiente. Durante este tiempo las setas crecieron y a medida que alcanzaban las medidas y pesos estándar se cortaban, se pesaban y se secaban.

Los resultados obtenidos permiten concluir que los sustratos que contienen manzana son los que han soportado un crecimiento micelial y una producción de setas mayor que el resto, los sustratos que contienen pasta de soja no han permitido la producción y, en muchos casos, ni siquiera el crecimiento del hongo. La presencia de purín no afecta ni al crecimiento micelial ni a la producción de la cepa probada.

PALABRAS CLAVE: *Pleurotus ostreatus*, sustrato, crecimiento, producción.

STUDY OF THE GROWTH AND THE PRODUCTION OF *Pleurotus ostreatus* H9 IN SEVERAL SUBSTRATES

AUTHOR: Rey Huerga, Nuria.

TUTORS: Mas Serra, M. Teresa
Verdú, Antoni M.C.

The main goal of this work is to study the growth and the production of *Pleurotus ostreatus* in several substrates: straw (control substrate), shavings, pulp of apple fruit, soybean paste, and composted cow manure. Mixing these elements in different percentages 35 combinations of substrate (3 replications) were obtained. The main objective was to clarify what is the optimum substrate for the growing and the production of mushrooms.

To carry out this experience the variety H9 was inoculated of *Pleurotus ostreatus* in the 105 jars that contained the different substrates and were incubated at 25-28°C in absence of light during approximately 40 days (until the mycelium compacted and colonized the substrate). The mycelial growth was periodically estimated by taking pictures. Afterthat, they were brought to a cold-storage room at 15 °C, and afterwards in a laboratory, at room temperature. During this time the mushrooms grew. When they attained standard size they were measured, cutted, dried and weighed.

The obtained results allow to go that the substrates that contain apple fruit were those that have reached the highest mycelial growth and the highest mushroom production. The substrates that contain soybean paste have not allowed the production and, in many cases, not even the growth. The presence of composted cow manure did not affect the mycelial growth neither the mushroom production.

KEY WORDS: *Pleurotus ostreatus*, production, growth, substrate.



ÍNDEX

1.INTRODUCCIÓ

	1
1.1. Esquema: Característiques dels fongs	2
1.2. Constitució	3
1.3. Parts dels bolets	3
1.3.1. El barret o capell	4
1.3.2. L'himeni: de làmines, de plecs, de porus, d'agulletes...	4
1.3.3. Les espores	5
1.3.4. El peu	5
1.3.5. Els vels	6
1.3.6. La carn: el color, l'olor i el sabor	6
1.4. Classificació dels fongs	7
1.4.1. Classe Basidiomicets	8
1.5. Cicle reproductiu típic d' un Basidiomicet	9
1.6. Fitxa tècnica	10
1.6.1. Hàbitat	11
1.6.2. Nutrició	11
1.6.3. Característiques	11
1.6.4. Cal saber	12
1.7 Característiques Gírgoles	13

2.OBJECTIUS

16



3. MATERIAL I MÈTODES	17
3.1 Material	17
3.1.1. Soca	17
3.1.2. Substrats de cultiu	17
3.1.3. Utensilis i accessoris	17
3.1.4. Equips	18
3.2. Mètodes	19
3.2.1. Creixement del micel·li (incubació)	19
3.2.1.1. Preparació de substrats	20
3.2.1.2. Inoculació de <i>Pleurotus ostreatus</i>	22
3.2.2. Mesures de creixement	23
3.2.2.1. Creixement micel·liar	23
3.2.2.2. Creixement i producció de bolets	23
3.2.2.3. Problemes en l'experimentació	24
3.3. Tractament estadístic de les dades	25
4. RESULTATS I DISCUSSIÓ	26
4.1. Valoració qualitativa	27
4.2. Valoració quantitativa	38
4.3. Discussió final	43
5. CONCLUSIONS	44
6. BIBLIOGRAFIA	45

1. INTRODUCCIÓ

Quan parlem de bolets ens referim a la part visible d'un ésser que viu sota terra, sobre la fusta, entre l'herba o la fullaraca i que anomenem **fong**. Els fongs no són animals ni vegetals (no tenen arrels, ni fulles, ni clorofil·la, són immòbils i es reproduïxen per espores). Incapaços de sintetitzar la matèria orgànica, l'obtenen d'altres éssers, vius o morts entre els quals viuen. És per això que constitueixen un grup a part, l'anomenat regne dels fongs.

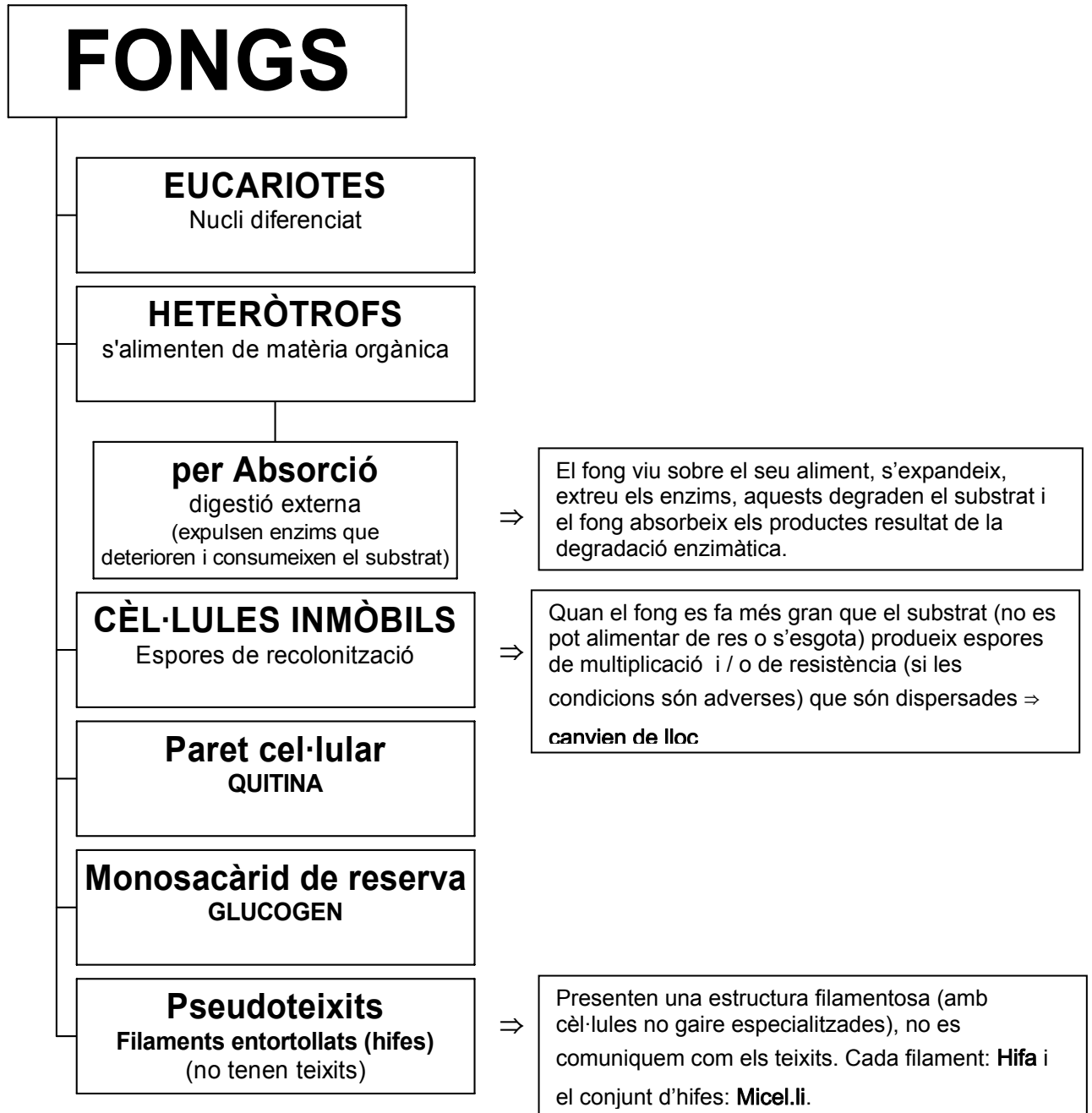


Fotografia 1: Conjunt de gírgoles sobre un arbre.

No tots els fongs donen lloc a bolets, n'hi ha molts de microscòpics i la seva importància és extraordinària, com és el cas dels llevats, les floridures, els antibiòtics etc. Sense ells no seria possible la transformació de la farina en pa, l'ordi en cervesa, ni el most en vi, encara que molts d'ells són els responsables de què es malmetin els aliments. Tampoc seria possible curar moltes malalties, abans considerades com mortals, sinó hagués estat pel descobriment de la penicil·lina fet pel doctor Fleming.

Una altra funció molt important dels fongs és que, junt amb els bacteris i altres microorganismes, descomponen la matèria orgànica del sòl i ajuden a restituir les sals minerals que havien estat absorbides per les arrels de les plantes.

1.1. Esquema: Característiques dels fongs



1.2. Constitució

El fong és constituït per un cos vegetatiu format per milers de filaments microscòpics (**hifes**) que viuen i es desenvolupen amagats entre la matèria orgànica, generalment en descomposició, formant un conjunt semblant a una teranyina que se'n diu **micel·li**. La forma de filament estret li permet penetrar en el substrat, cercar-hi aliments i absorbir-los (també n'hi ha que són unicel·lulars i viuen dins de cèl·lules). Quan les condicions de temperatura i humitat són adients, aquest micel·li creix molt de pressa, es concentra i forma l'òrgan reproductor o carpòfor que popularment es coneix com a bolet i que surt a l'exterior. Les estructures reproductores presenten gran varietat de formes, a partir de les quals es classifiquen els fongs. En aquestes es formen les espores que permetran, amb la seva dispersió, la reproducció de l'espècie.

1.3. Parts del bolet

Els bolets més coneguts tenen com a característica principal la presència de peu i de barret, però hi ha altres parts, no tan visibles ni tan conegudes que queden exposades en l'esquema següent:

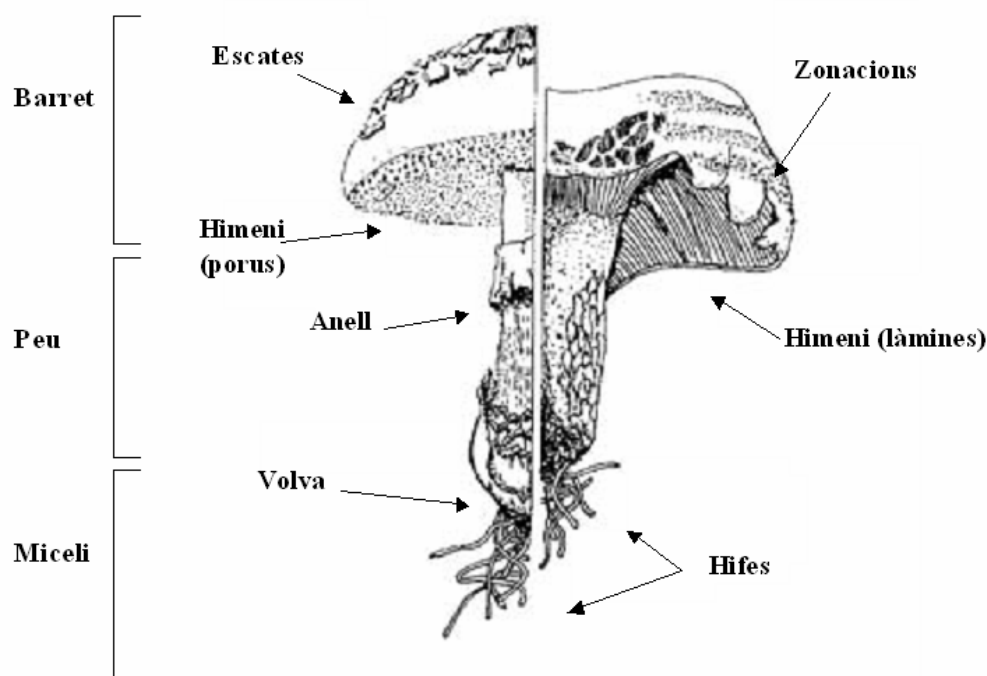


Figura 1: esquema de les parts d'un bolet

Considerarem preferentment les característiques apreciables a simple vista, dels fongs superiors, proveïts d'un peu i d'un barret. Sota el barret hi ha l'himeni, que es disposa sobre diferents estructures les més comunes de les quals són làmines radials.

1.3.1. El barret o capell

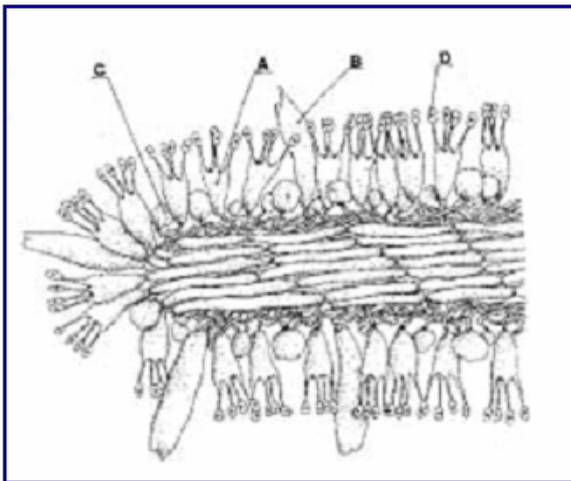
El carpòfor o bolet està constituït pel barret, que porta l'himeni, i pel peu. Quan el peu falta, el capell s'adhereix directament sobre el substrat.

El barret pot tenir formes diferents però, entre els fongs superiors carnosos, el més freqüent és que prengui formes orbiculars si bé es pot matisar dient que és cònic, hemisfèric, en forma d'embut, etc.

El seu revestiment pot ser llis, reticulat, estriat i la seva superfície pot ser llisa, presentar pèls, escates o fibres. Igualment pot ser sec o gelatinós, viscos o greixós, segons que la capa de gelatina que el recobreix sigui més o menys gruixuda.

1.3.2. L'himeni: de làmines, de plects, de porus, d'agulletes...

L'himeni representa la part fèrtil del bolet, és a dir el lloc on es formen les espores. En el cas dels Basidiomicets està constituït pels basidis amb forma de porra i



proveïts de quatre espores situades al capdamunt. Pot trobar-se totalment protegit a l'interior del bolet de forma que s'ha d'esquinçar o bé podrir-se la coberta exterior per poder alliberar les espores, com en el cas dels pets de llop, els fetjons, etc. En altres casos l'himeni és llis i extern recobrint tot el cos fructífer i els basidis es formen a l'extrem de les hifes, com en el cas de les bosses, els peus de rata, els rossinyols, etc. de vegades apareix sota el barret, recobrint l'interior de tubs o làmines.

Figura 2: **Himeni d'un basidiomicet**
A: basidi, B: cèl·lula estèril
C: cèl·lula estèril, D: espora

1.3.3. Les espores

L'espore (del grec *spora* = llavor, espore) és la cèl·lula reproductora, asexual i sense embrió, resultat final del desenvolupament dels carpòfors, que assegura la perpetuació de l'espècie ja que té la capacitat de germinar i de produir un nou miceli amb capacitat per diferenciar esporangis amb espores.

Cada bolet produeix milions d'espores.

L'esporejada és el dipòsit d'espores procedents de l'himeni, que es recull sobre una superfície llisa (cartolina), deixada unes hores en repòs.

Les espores observades al microscopi presenten formes diferents, però la forma i el color és constant per a una determinada espècie, d'aquí ve la seva importància per a la Sistemàtica.

1.3.4. El peu

Normalment el peu és ben diferenciat i en una posició central sota el barret, encara que pot ser, a vegades, que sigui excèntric.

Pot presentar formes ben variables. Pot ser cilíndric, atenuat, bulbós, etc. igual que el barret pot estar ornamentat amb fibres o pèls.

És d'interès en sistemàtica la forma en què s'insereixen al peu les estructures himenials de sota el barret.



Fotografia 2:

Barret excèntric

Orellana (*Pleurotus ostreatus*)

1.3.5. Els vels

Els vels són una mena de membranes protectores que durant el període de creixement del bolet, l'embolcallen tot ell o només en part. Normalment es diferencia entre:

- vel universal que envolta el primordi quan comença a diferenciar-se sobre les hifes del micel·li i que desapareix molt aviat
- un vel general que embolcalla tot el bolet durant la seva creixença i que a mida que aquest creix es va esquinçant, deixant alguns testimonis a sobre del barret i a la base del peu en forma de volva
- vel parcial, que protegeix l'himeni i que també s'estripa durant el creixement deixant en alguns casos, alguna resta sobre el peu com en el cas dels anells.

1.3.6. La carn: el color, l'olor i el sabor

La carn del bolet està constituïda per una massa diferenciada d'hifes, que confereixen al bolet una consistència, resistència, textura, sabor, color i olor determinades, diferent segons siguin els exemplars joves o vells, humits o eixuts, etc. i que permeten distingir entre aquells que són apreciats gastronòmicament i aquells que no tenen valor culinari o bé entre els comestibles i els que són tòxics o fins i tot mortals. De forma senzilla es podria distingir entre:

- carn coriàcia com el cuir, el cartró o fins i tot la fusta típica dels bolets de soca, les pipes etc.
- carn friable, que es trenca com el guix i s'engruna entre els dits, com en el cas de les cuagres, les llores, els rovellons etc.
- carn fibrosa, tova o dura pròpia de la majoria dels agaricals
- carn gelatinosa com en el cas de la cresta de gall etc.

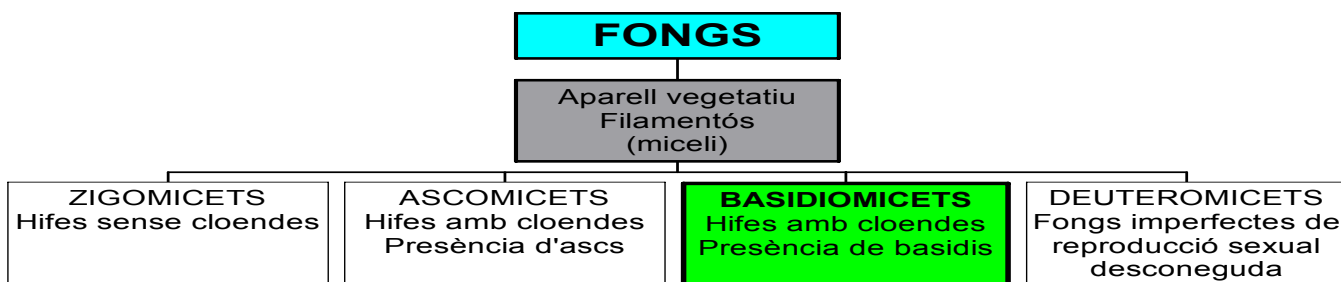
El color de la carn és un caràcter molt variable fins i tot entre bolets de la mateixa espècie. En molts casos el nom llatí del bolet fa referència al seu color, així per exemple *aural*, de color daurat; *sanguina*, de color de sang; *eruginosa*, de color blau verd; etc.

En alguns casos el color pot canviar en entrar en contacte amb l'aire, degut a un procés d'oxidació; és el cas de molts bolets del gènere *Boletus* que bravegen quan es tallen.

L'olor dels bolets és també característica, però és un aspecte molt subjectiu, excepte en els casos molt evidents com l'olor pudent de l'ou del diable o la gita de bruixa.

El gust és un caràcter que també ajuda a l'hora de determinar algunes espècies de bolets.

1.4. Classificació dels fongs



El regne dels fongs es separa en quatre grans grups (com es pot observar a l'esquema anterior):

- Zigomicets
- Ascomicets
- **Basidiomicets**
- Deuteromicets

En aquest cas concret i degut a l'estudi realitzat es parlarà del grup dels Basidiomicets:

1.4.1. Classe Basidiomicets

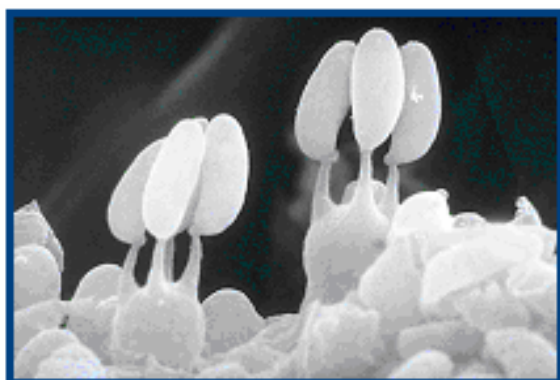
Segons Ramon Pascual (2003), els fongs que pertanyen a aquesta classe són considerats com els més evolucionats i es caracteritzen perquè les seves espores s'originen en unes cèl·lules anomenades **basidis**, surten a l'exterior i són sustentades pels esterigmes fins que no maduren i es desprenen. La majoria de les vegades cada basidi porta 4 espores.

Constitueixen el grup més evolucionat dels fongs, amb unes 16.000 espècies conegudes. Els basidiomicets més comuns (**homobasidiomicètides**) formen hifes dicariòtiques i septades que constitueixen un micel·li vegetatiu, el qual intervé en les funcions de nutrició i té la capacitat de formar aparells fructífers, els bolets, amb cèl·lules esporíferes.

Els basidis es disposen generalment en palissada i formen la superfície fèrtil o himeni, a vegades acompanyats d'altres cèl·lules estèrils com ara els cistidis.

L'himeni entapissa l'himenòfor, una superfície que pot ser llisa però que, per augmentar en poc espai la zona sustentadora dels basidis, pren formes diverses: plecs, agulletes, tubets o làmines.

La majoria dels bolets típics, tant comestibles com metzinosos, són els carpòfors o aparells fructífers dels basidiomicets.



Fotografia 3:

Part de l'himeni mostrant els basidis,
i basidiospores (microscopi electrònic).
(Merton F. Brown i Harold G. Brotzman)

1.5. Cicle reproductiu típic d'un Basidiomicet

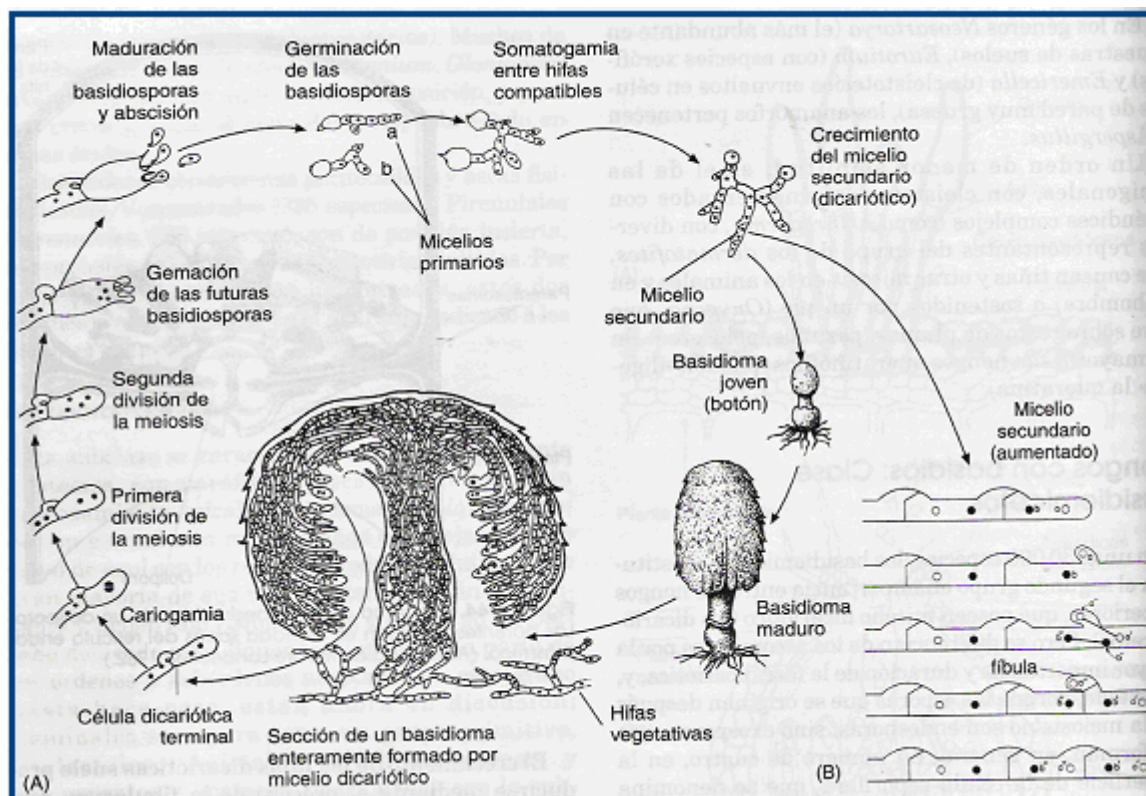


Figura 3: Cicle reproductiu típic d'un Basidiomicet (*Coprinus*). Totes les cèl·lules del basidioma són dicariòtiques. (B) Detall del creixement del miceli secundari per fibulació a partir d'un miceli dicariòtic (cercle = nucli del miceli a; disc negre = nucli del miceli b). (Xavier Llimona. 2004, *Hongos*. En: *Botánica*.).

1.6. Fitxa tècnica

GÍRGOLA

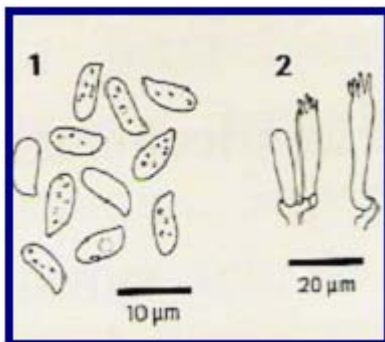
Orellana, clopissó

Pleurotus ostreatus (Jacquin: Fr.) Kumm

Del grec *pleurón*: costat i *ūs*, otós: orella; i del llatí *ostrea*: ostra (per la forma del barret).



Fotografia 4: gírgola en un tronc d'arbre.



1. Esporada blanca. Espores gairebé cilíndriques, llises, hialines, gutulades, de 7-9 x 3-3,5 µm.
2. Basidis estrets, claviformes, de 25-35 x 5-7 µm, amb 4 esterigmes.

1.6.1. Hàbitat

Lignícola. Sobre branques mortes i troncs caiguts d'arbres caducifolis, sobretot salzes i pollancre, sovint en colònies amb els barrets imbricats. A la tardor i al principi de l'hivern, quan es produeix un descens brusc de la temperatura.

1.6.2. Nutrició

Les gírgoles són fongs sapròfits, és a dir, viuen sobre matèria orgànica morta, degradant-la. Les podem trobar sobre fusta podrida, fulles mortes, fruits o fems.

1.6.3. Característiques

Barret en forma de llengua o d'espàtula quan el bolet surt, però que aviat s'obre, es fa convex i pren forma de petxina incubada cap al peu, amb el marge involut, de 4 a 20 cm d'amplada, de color variable, sobretot gris però també grogós, brunenc i fins i tot amb tons blaus.

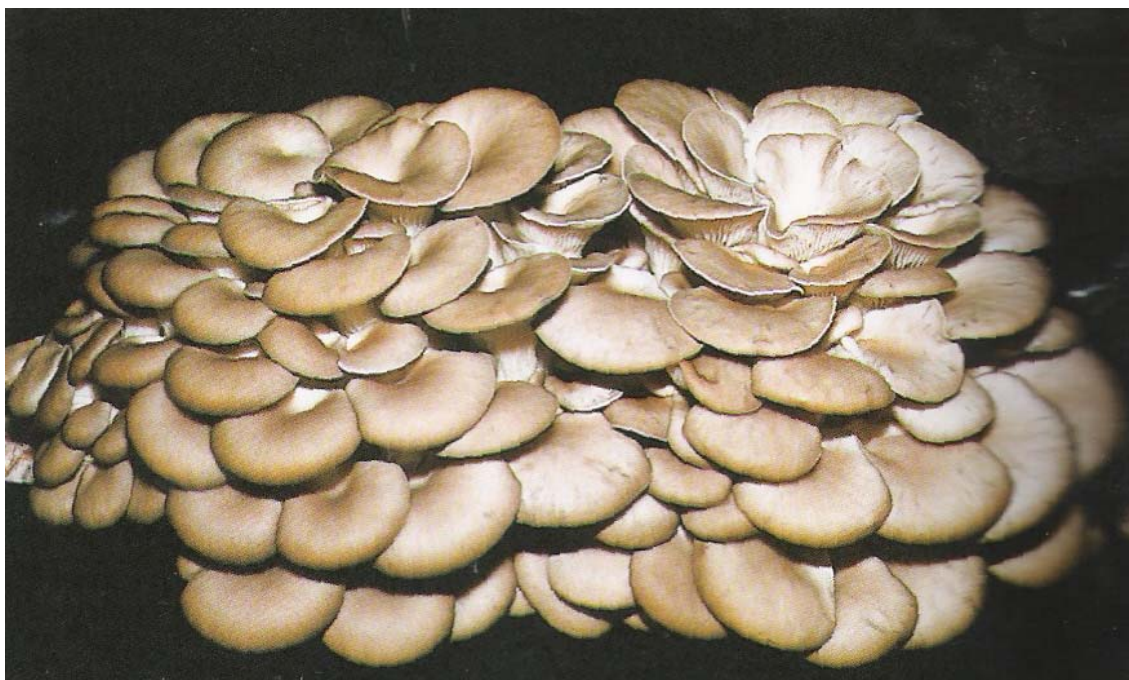
Làmines blanques, molt decurrents si hi ha peu diferenciat; si no, confluent en la zona d'inserció al substrat.

Carn compacta, mai gelificada, prima, blanca o grisenca, amb olor suau, de bolet de soca, i gust més aviat dolç.

Peu lateral, d'1-2 x 1-2,5 cm, a vegades més petit o gairebé sense peu, sovint soldat amb els dels individus veïns, blanc, amb la superfície lleugerament pubescent.

1.6.4. Cal saber

Les gírgoles es cultiven a gran escala sobre bales de palla i encenalls i, quan fructifiquen, ho fan en gran quantitat, amb molts bolets junts i atapeïts, formant conjunts d'una gran bellesa. Des del punt de vista de mercat no han assolit l'acceptació del xampinyó cultivat, de gust més tradicional (les gírgoles sempre són dolcetes), però sol haver-n'hi tot l'any i és habitual a les botigues de verdures.



Fotografia 5: *Pleurotus ostreatus* cultivat sobre una bala de palla.

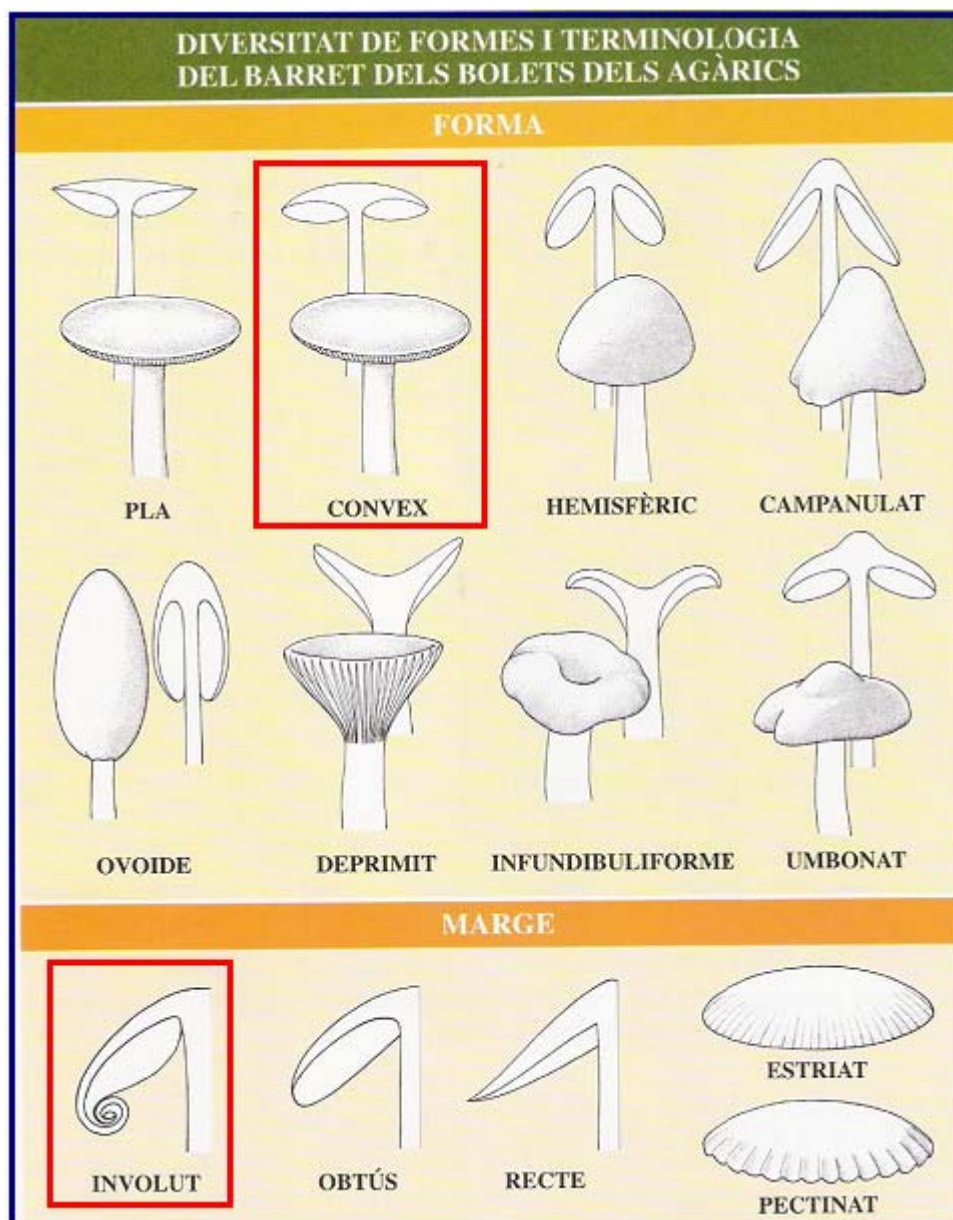


Comestible de bona qualitat. Convé coure'l una bona estona per tal d'estovar-li la carn, que és una mica dura.

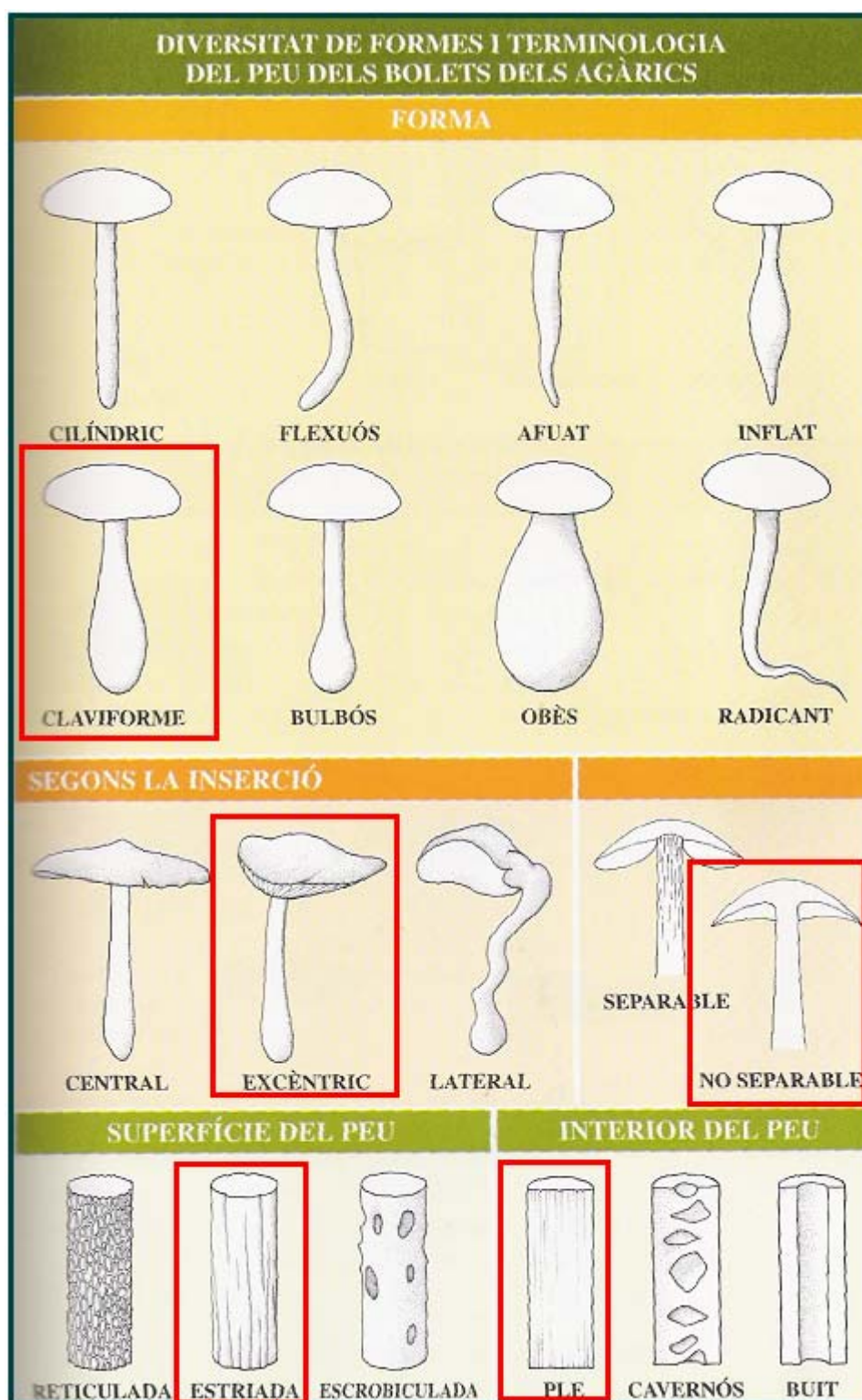
Els exemplars destinats a la venda són els que es recullen quan són joves, ja que després la carn es torna dura. La part més apreciada de la gírgola és el cap. El peu i els exemplars adults es destinen a la preparació de sopes, salses i plats preparats amb sabor a bolets.

1.7 Característiques Gírgoles

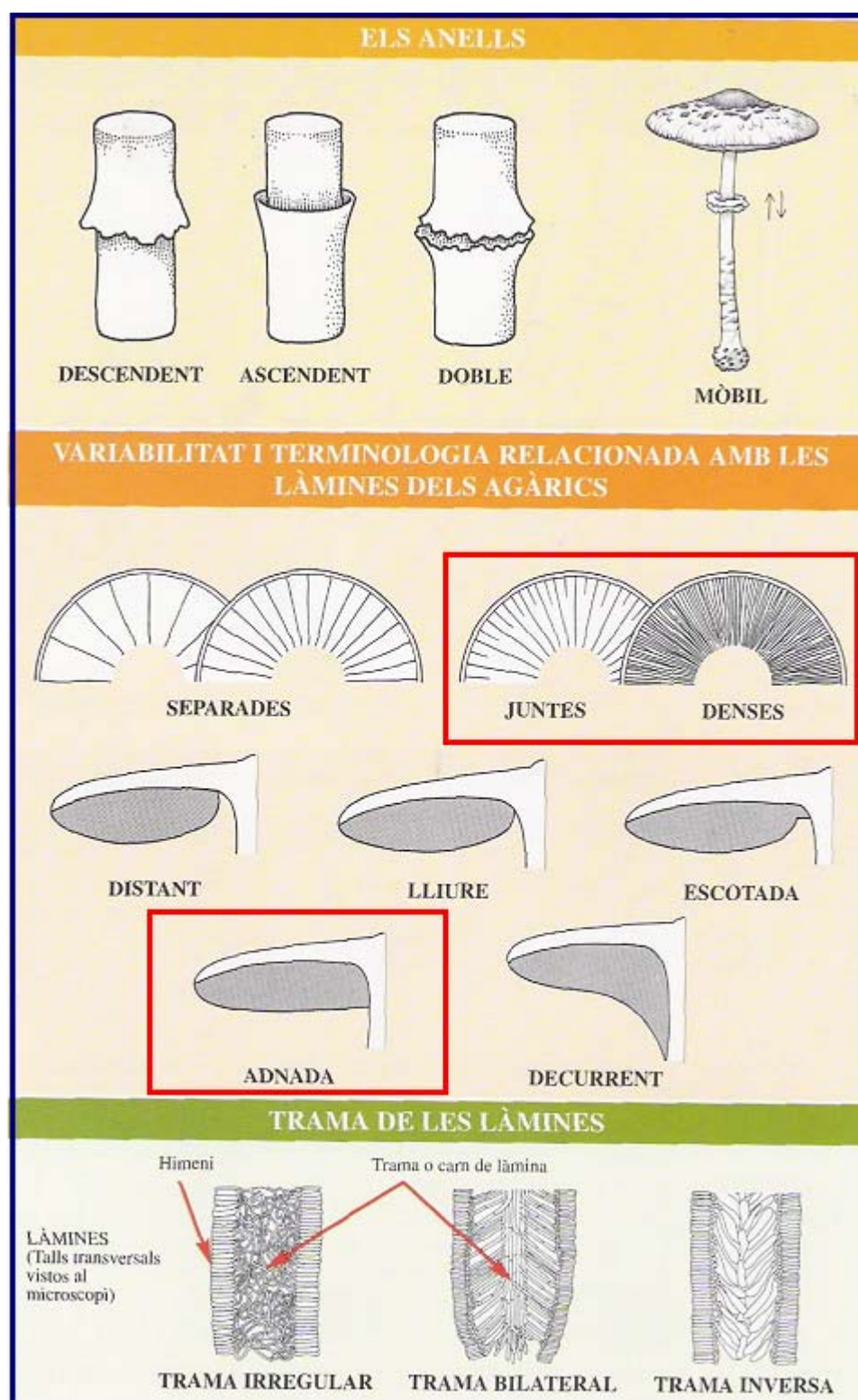
En aquestes taules es poden trobar les característiques morfològiques de les gírgoles (el cap i el peu).



Taula 1: característiques físiques bolets.



Taula 2: característiques físiques bolets.



Taula 3: característiques físiques bolets.

2. OBJECTIUS

Aquest treball té l'objectiu principal d'estudiar la producció i el creixement de gírgoles (*Pleurotus ostreatus*, soca H9) en diversos substrats com són: la palla (substrat control), els encenalls, la polpa de fruita (polpa de poma), la pasta de soja i els purins. Aquests elements, combinats en diferents percentatges configuren els substrats a provar.

Més concretament, els objectius parcials són els següents:

1. La identificació del substrat òptim per a la producció de gírgoles H9 considerant:
 - 1.1. El creixement micel·liar
 - 1.2. La producció de bolets

L'estudi hauria de permetre:

2. L'obtenció d'uns paràmetres de cultiu òptims (T^a incubació, T^a creixement, intervals de rec...) per a un futur estudi a més gran escala.
3. Finalment, els resultats haurien de ser útils a l'empresa FOREST JOU¹ que es dedica a la producció de gírgoles.

¹ Empresa del sector situada al municipi de Fígols (Berguedà), que consta d'una antiga mina amb cultiu i producció de gírgoles.

3. MATERIAL I MÈTODES

3.1 Material

3.1.1. Soca

La soca que es va utilitzar per a realitzar l'estudi s'anomena H9. És una soca comercial que va facilitar el Departament de Botànica de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB) dipositada en vasos de precipitat amb un agregat de llavors autoclavades + micel·li (anomenat blanc). No s'ha trobat informació específica d'aquesta varietat.

3.1.2. Substrats de cultiu

Els elements que es van utilitzar per elaborar els substrats van ser:

- Palla de cereal, concretament ordi (*Hordeum vulgare*) (substrat control)
- Encenalls de resinosa, provinents d'una indústria forestal
- Polpa de fruita (poma), rebuig d'elaboració de suc de poma envasat
- Pasta de soja, rebuig de l'elaboració de llet de soja
- Purins de vaca compostats

3.1.3. Utensilis i accessoris

Material per la preparació del substrat i la inoculació:

- Vasos de precipitat amb el blanc: contenen la soca de *Pleurotus ostreatus*
- Provetes 1000 ml: per mesurar les quantitats de substrat
- Pots de vidre: pel cultiu del fong
- Parafilm: per tapar els pots (incubació)
- Espàtula
- Contenidors (tipus palangana): per fer la barreja i condicionament dels substrats
- Colador
- Fogonet d'alcohol
- Alcohol en pulveritzador
- Tissores
- Bosses de plàstic (per autoclavar)
- Cullera

Material per a la recollida de bolets:

- Cúter
- Peu de rei: per a mesurar les longituds del bolet
- Sobres de paper: per posar els bolets a l'estufa

3.1.4. Equips

Instruments òptics:

- Càmera de fotos: per a mesurar el creixement micel·liar

Aparells de seguiment:

- Balança: per mesurar el pes de substrat a cada pot
- Peu metàl·lic: per col·locar la càmera de fotos

Aparells per a l'esterilització i la sembra:

- Autoclau (*Selecta*)
- Cambra de flux laminar (*Telstar*)

Cambres de cultiu:

- Estufa d'incubació (60°C)
- Cambra frigorífica (15°C)
- Laboratori (T^a ambient)

3.2. Mètodes

3.2.1. Creixement del micel·li (incubació)

S'adjunten taules-resum de tot el procés experimental:

Taula 4: Indicacions del cultiu de fongs sapròfits (Font: MAROTO, 1995)

FONG	SUBSTRACT UTILITZABLE	CONDICIONS DE CREIXEMENT	FRUCTIFICACIÓ	OBSERVACIONS
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Palla enriquida i trossejada de diversos vegetals	24° C sota protecció plàstica	T < 24° C, aireació, gran humitat	Molt apreciat

Taula 5: Fases del cultiu de bolets

FASES	PROCESSOS	TEMPS	CULTIU
Preparació del substrat	Condicionament del material base		Palla, encenalls, polpa de poma, pasta de soja i purins.
	Humitejat	≈ 24h	La palla, els encenalls i els purins en aigua.
	Esterilització	20 min.	A l'autoclau a 121°C durant 20 min.
Inoculació del fong	Barrejat		≈ 8 g de blanc per pot
Incubació		≈ 1 mes	En pots de vidre transparents coberts amb parafilm. T ^a local (25-28°C).
Producció de bolets	Control de l'ambient	≈ 45 dies	Cop de fred a ≈ 15°C durant uns dies i després a T ^a ambient. Mantenint el substrat humit, regant cada un o dos dies.

3.2.1.1. Preparació de substrats

El condicionament d'alguns dels substrats i la realització de les diferents combinacions són els passos previs a l'inoculació del fong. La palla (tallada a trossets petits), els encenalls i els purins es van humitejar (amb aigua destil·lada) durant 24 hores per tal d'afavorir les condicions de creixement del micel·li. La polpa de poma i la pasta de soja es van conservar a la nevera.

Una vegada es va disposar de tots els substrats amb les condicions desitjades es va procedir a realitzar totes les combinacions:

Taula 6: Percentatges en volum de les diferents combinacions de substrats utilitzats

Combinació	Palla	Encenalls	Polpa de poma	Pasta de soja	Purí
1	100				
2		100			
3			100		
4				100	
5	90				10
6		90			10
7			90		10
8				90	10
9	80				20
10		80			20
11			80		20
12				80	20
13	50	50			
14	50		50		
15	50			50	
16		50	50		
17		50		50	
18			50	50	
19	45	45			10
20	45		45		10
21	45			45	10
22		45	45		10
23		45		45	10
24			45	45	10
25	33,3	33,3	33,3		
26	33,3	33,3		33,3	
27		33,3	33,3	33,3	
28	33,3		33,3	33,3	
29	30	30	30		10
30	30	30		30	10
31		30	30	30	10
32	30		30	30	10
33	25	25	25	25	
34	22,5	22,5	22,5	22,5	10
35	20	20	20	20	20

A partir d'aquests valors es van calcular els grams de cada substrat que anirien a cada pot, per tal de que tots aquests tinguessin el mateix pes.

Es pesava el substrat en una balança, i es dipositava al pot ja codificat² (fent barreja prèvia en cas de que hagués més d'un substrat). Es van fer 3 rèpliques de les 35 combinacions (veure taula pàgina anterior).

Posteriorment, es van esterilitzar tots els pots (per evitar risc de contaminació) en una autoclau a 121°C durant 20 min. Es van fer en tres tongades diferents i seguidament es van deixar refredar abans d'inocular el fong.

3.2.1.2. Inoculació de *Pleurotus ostreatus*

Un cop refredats, es va procedir a inocular els pots a la cabina de flux laminar (per evitar contaminacions de l'exterior). Amb l'ajut d'una espàtula³ es van desenganxar els trossos de llavor+micel·li de les parets del vas de precipitats i amb una cullera³ s'omplia cada pot amb uns 8 g de l'agregat (llavor+micel·li). Seguidament, es van segellar els pots amb parafilm i es van portar a un laboratori (dins de l'armari)



Fotografia 6: inoculació del fong (cambra flux laminar) amb absència de llum i a una temperatura local d'uns 25-28°C fins que el fong va colonitzar el substrat (el pot es veia de color blanc). Aquesta fase va durar uns 30 dies aproximadament.

² Cada pot constava del seu número de combinació, de la soca i d'una identificació de rèplica (Ex. 1 H9 ')

³ Esterilitzada: Es submergia en alcohol i es flamejava utilitzant un fogonet d'alcohol (procediment per cada inoculació).

3.2.2. Mesures de creixement:

3.2.2.1. Creixement micel·liar

Durant la fase d'incubació es va anar controlant el creixement micel·liar mitjançant fotografies. Es van realitzar quatre sessions fotogràfiques a un ritme d'aproximadament una per setmana. S'utilitzava un peu metàl·lic com a suport de la càmera de fotos perquè es fessin les fotos sempre a la mateixa distància, escollint a l'atzar la zona del pot a fotografiar. Posteriorment, amb les fotografies recollides es va realitzar un estudi del creixement micel·liar mitjançant un programa informàtic anomenat *Corel foto-paint 9*, que permetia la transparentació de la part de la fotografia que no contenia micel·li i a continuació el recompte de píxels de la part micel·liar. Així es va estudiar i comparar el creixement del micel·li de les quatre sessions fotogràfiques.

3.2.2.2. Creixement i producció de bolets

La següent fase a la incubació va ser la producció de bolets, fase en la qual es necessari un control de l'ambient. Es van portar els pots que havien patit la colonització de micel·li a una cambra frigorífica a uns 15°C. Inicialment s'humitejaven els pots cada 2-3 dies amb un pulveritzador, però, degut a que en aquesta cambra, la humitat era molt difícil de controlar (ja que per mantenir-ho a 15°C extreia humitat de l'ambient, era insuficient el rec cada 2-3 dies i els bolets que creixien s'assecaven ràpidament i no arribaven al seu creixement òptim) es va decidir que el cop de fred necessari per a l'inici del creixement ja s'havia produït i es van col·locar en un altre laboratori a temperatura ambient (mantenint l'interval d'humitejat cada 2-3 dies).

A la setmana d'haver donat el cop de fred als pots van començar a sortir primordis i seguidament els bolets. Quan arribaven al seu creixement òptim (ni el cap ni el peu creixien més, les voreres del cap ja estaven ben definides i el color passava de grisenc a marró) es tallaven, mitjançant un cúter per la part del peu més propera al substrat i intentat recollir el bolet íntegrament. Es va prendre nota amb un peu de rei de la seva longitud (peu i cap), del seu diàmetre (es van agafar dos valors de diàmetre perpendiculars), el seu pes fresc i el seu pes sec. Per aconseguir aquest últim, els bolets collits, es col·locaven en sobres de paper i es posaven a l'estufa d'assecatge durant 5-7 dies a 60°C.

3.2.2.3. Problemes en l'experimentació

Durant l'experimentació (sobretot durant la preparació de substrats i la incubació) es van trobar diversos problemes.

La soja estava contaminada (possiblement per un bacteri o llevat), però en principi al autoclavar-se aquells pots, quedarien esterilitzats i desapareixeria la contaminació inicial. Però, durant el temps de refredament, es va observar que apareixien taques rosades (característiques de la contaminació esmentada anteriorment) un altre cop i es va decidir tornar a autoclavar els pots que patien aquesta variació de color. Aquests medis que havien patit una segona esterilització, van quedar líquats i amb un aspecte i un olor desagradables.

Els primers dies de la incubació i en els pots on el substrat es trobava líquat, es va poder observar el creixement de larves, suposadament i segons M. García Rollán (1998), les larves eren de sciàrid o de *Megaselia*, una mosca que posa ous en cultius de fongs, i s'alimenta del micel·li. Es va observar que apareixien en els pots que contenien soja.

La temperatura del laboratori on es produïa la fase d'incubació era sensiblement superior a la recomanada, aproximadament uns 30-35°C en lloc dels 25-28°C òptims. Aquest, va ser un dels factors que va produir el trencament del parafilm que cobria els pots i va facilitar l'entrada de les mosques i d'altres organismes contaminants.

Els pots, per protegir-los de la llum es van col·locar dins d'un armari, de tal manera que la rèplica nº 1 quedava al fons de l'armari, seguida de la nº 2 i la nº3 (al costat de les portes), en aquesta última, la gran majoria dels pots va ser descartats (no es van portar a la cambra de refrigeració) degut a que no van patir creixement micel·liar. Una de les causes possibles va ser que no estaven tan resguardats de la llum com la resta.

Altres problemes sorgits es van donar a la fase de creixement i producció de bolets, on la cambra frigorífica inicial, extreia la humitat de l'ambient per mantenir la temperatura a 15°C, la conseqüència d'això va ser que els bolets s'assecaven abans d'arribar al seu creixement màxim. Degut a això, l'interval d'humitejat va passar a ser de 2-3 dies a 1 dia, això va produir un excés d'humitat als bolets i com a conseqüència van aparèixer contaminacions per altres tipus de fongs (no identificats).

3.3. Tractament estadístic de les dades

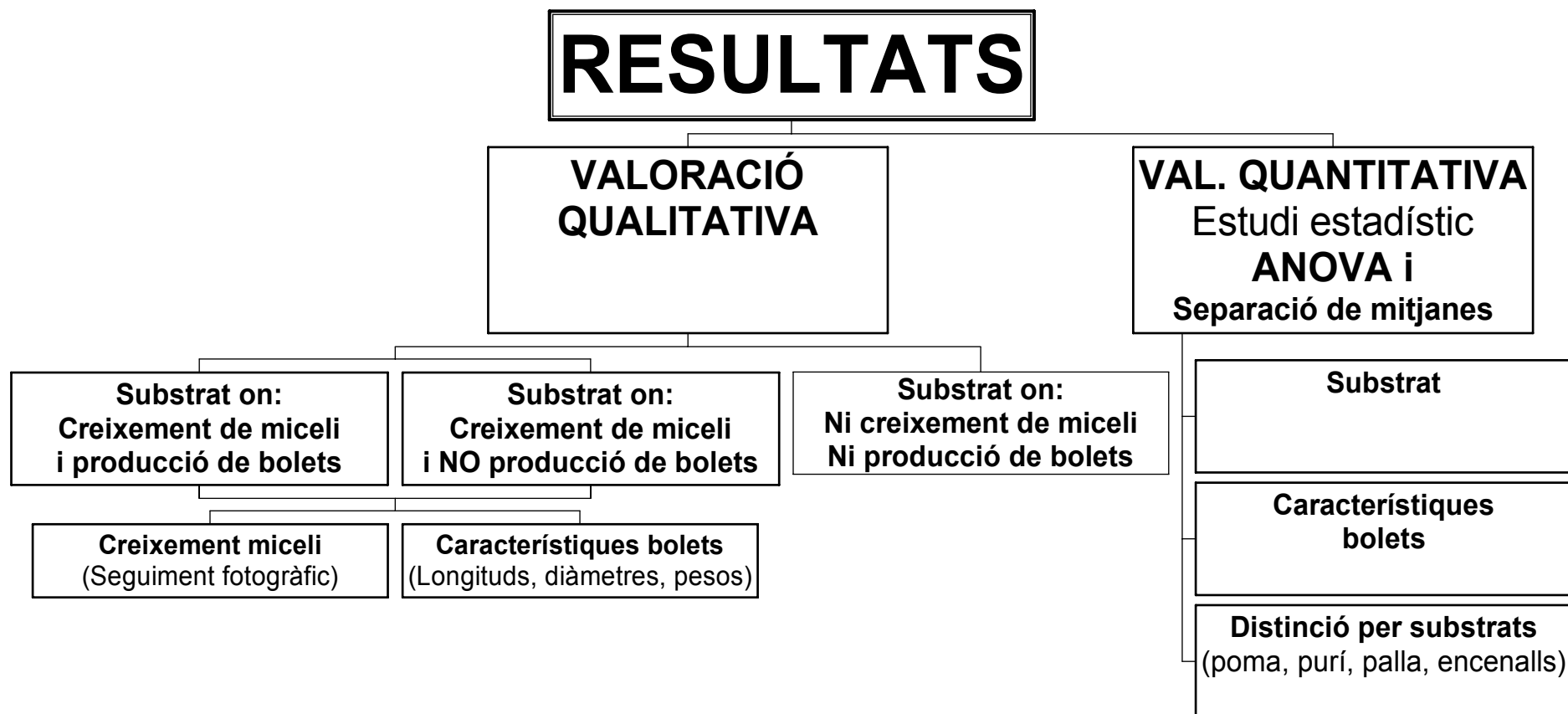
Les dades es van tractar amb el paquet estadístic SAS, concretament amb el procediment GLM.

Per les diferents variables obtingudes (de creixement i de producció) es van fer anàlisi de la variància (ANOVA) considerant com a factor de variació el substrat o els seus components, seguits de separacions de mitjanes dels nivells del/s factor/s considerats pel mètode de Student Newman Keuls.

També es van utilitzar les aplicacions Excel per alguns anàlisis i per la representació gràfica de determinats resultats.



4. RESULTATS I DISCUSSIÓ



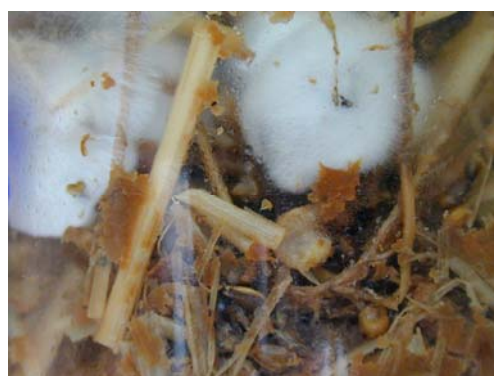
4.1. Valoració qualitativa

Després de tota l'experimentació es van trobar diferents tipus de resultats:

- **Substrats on s'havia donat creixement micel·liar i producció de bolets òptima:** els més complets. Corresponen als pots en els que es va donar un creixement micel·liar i van produir bolets.
- **Substrats on s'havia produït creixement micel·liar però no producció de bolets:** en aquest cas si que es va produir un creixement micel·liar, però degut a contaminacions externes (larves, la soja contaminada, etc) o a la colonització per altres fongs no es van produir bolets. Aquestes contaminacions van ésser posteriors a la colonització del substrat per part del micel·li, ja que si haguessin estat anteriors no s'hagués produït aquest creixement.
- **Substrats on no es va enregistrar ni creixement ni producció :** en aquest cas no es va produir cap creixement de micel·li i conseqüentment la producció de bolets va ser inexistent. Aquests pots van patir una contaminació abans de que el micel·li pogués colonitzar el substrat.



Fotografia 7: creixement i producció



Fotografia 8: creixement micel·liar (només micel·li)



Fotografia 9: absència de creixement micel·liar (medi líquat)

Els pots que van suportar un creixement micel·liar i es van portar a la cambra de refrigeració van ser els que apareixen a la taula següent:

Taula 7: Combinacions que van patir el creixement micel·liar esperat.

Combinació	Nº Rèpliques
1 (palla)	Una rèplica
5 (palla + purí)	Dos rèpliques
6 (encenalls + purí)	Tres rèpliques
7 (poma + purí)	Dos rèpliques
9 (palla + purí)	Una rèplica
10 (encenalls + purí)	Dos rèpliques
11 (poma + purí)	Dos rèpliques
13 (palla + encenalls)	Dos rèpliques
14 (palla + poma)	Dos rèpliques
16 (encenalls + poma)	Una rèplica
19 (palla + encenalls + purí)	Dos rèpliques
20 (palla + poma + purí)	Dos rèpliques
22 (encenalls + poma + purí)	Una rèplica
25 (palla + encenalls + poma)	Dos rèpliques
29 (palla + encenalls + poma + purí)	Una rèplica

Es van portar a la cambra de refrigeració el dia 06/09/06

Taula 8: Combinacions de substrat que han produït bolets.

Combinacions que han donat bolets												
1	5	7	9	10	13	14	16	19	20	22	25	29

Les dades de producció d'aquests substrats es podran veure a la taula 10 de l'apartat de resultats.



Estudi del creixement i la producció de *Pleurotus ostreatus* H9 en diversos substrats

Mitjançant els resultats obtinguts amb el tractament fotogràfic realitzat durant la fase d'incubació, es van elaborar unes taules que informen sobre la colonització del substrat per part del micel·li i el seu creixement durant les quatre sessions fotogràfiques.

Taula 9: Percentatges de recobriment dels substrats per part dels micel·lis dels dies 10 i 31⁴

SOCA	SUBSTRAT	PIXELS sessió n° 1	% Recobriment Micel·liar	PIXELS sessió n° 4	% Recobriment Micel·liar
H9	1	877127	45,68	1114756	63,87
H9	1	599877	31,24	1734920	99,40
H9	1	0	-	403957	23,14
H9	2	477519	24,87	1059060	60,68
H9	2	28591	1,49	760043	43,54
H9	5	152515	7,94	1392596	79,78
H9	5	165415	8,62	1462949	83,81
H9	5	0	-	0	-
H9	6	511828	26,66	1001121	57,36
H9	6	1104105	57,51	849777	48,69
H9	6	0	-	1071751	61,40
H9	7	938621	48,89	1411919	80,89
H9	7	323417	16,84	1900642	108,89
H9	9	715956	37,29	120841	6,92
H9	9	949970	49,48	1245260	71,34
H9	10	659797	34,36	821242	47,05
H9	10	875408	45,59	762556	43,69
H9	10	0	-	1119631	64,15
H9	11	1420485	73,98	240078	13,75
H9	11	1112226	57,93	1440558	82,53
H9	13	215765	11,24	1532542	87,80
H9	13	561659	29,25	1036994	59,41
H9	13	124412	6,48	.	-
H9	14	596576	31,07	1846959	105,82
H9	14	244791	12,75	1612822	92,40
H9	16	135705	7,07	181595	10,40
H9	16	836444	43,56	1264635	72,45
H9	19	930470	48,46	925094	53,00
H9	19	610062	31,77	625066	35,81
H9	19	0	-	0	-
H9	20	335490	17,47	1228427	70,38
H9	20	538725	28,06	1739776	99,67
H9	22	0	-	820477	47,01
H9	22	0	-	0	-
H9	25	64362	3,35	969504	55,54
H9	25	64579	3,36	1633876	93,61

⁴ Es conta a partir del dia de la incubació. (és a dir, el dia 1 és el dia de la incubació).

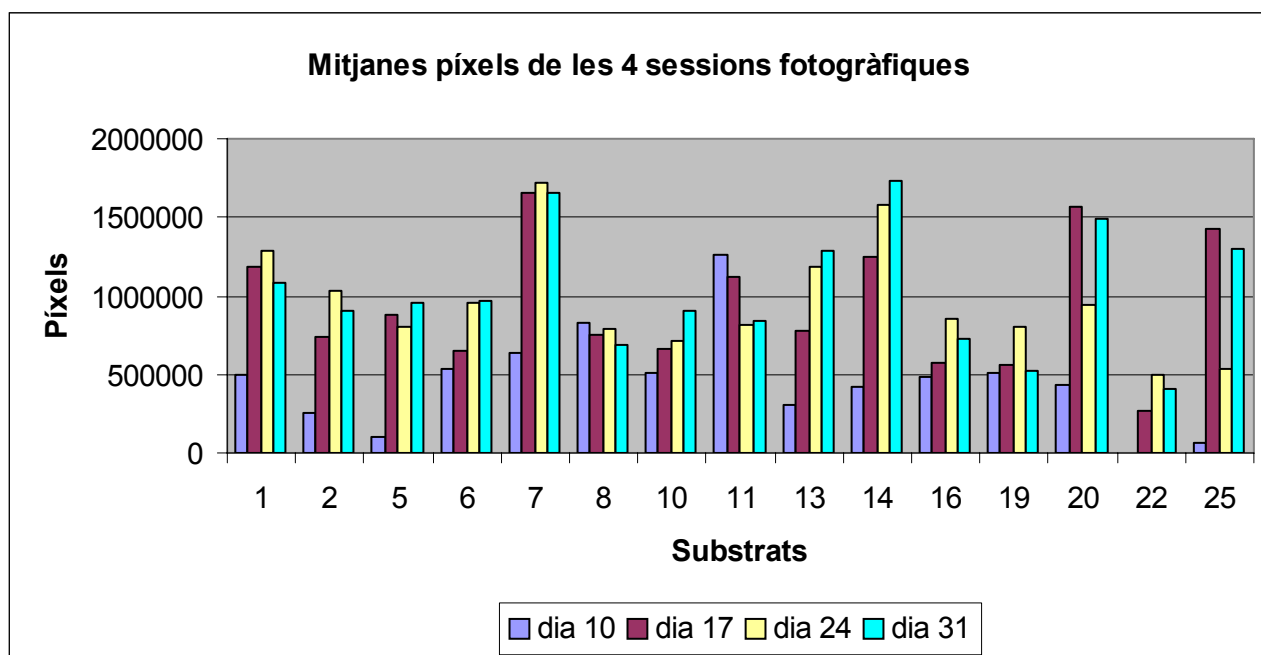


En aquesta taula apareixen les combinacions on es va observar creixement micel·liar en dues o les tres rèpliques.

Només consten a la Taula 9 les dades obtingudes del la primera sessió fotogràfica (arrencament de la colonització del substrat) i de l'última sessió fotogràfica, que corresponen als dies 10 i 31 des de la inoculació. També consten els percentatges de recobriment micel·liar del substrat d'aquests dos dies.

Amb els resultats obtinguts de les quatre sessions fotogràfiques es va fer una comparativa, mitjançant les aplicacions Excel:

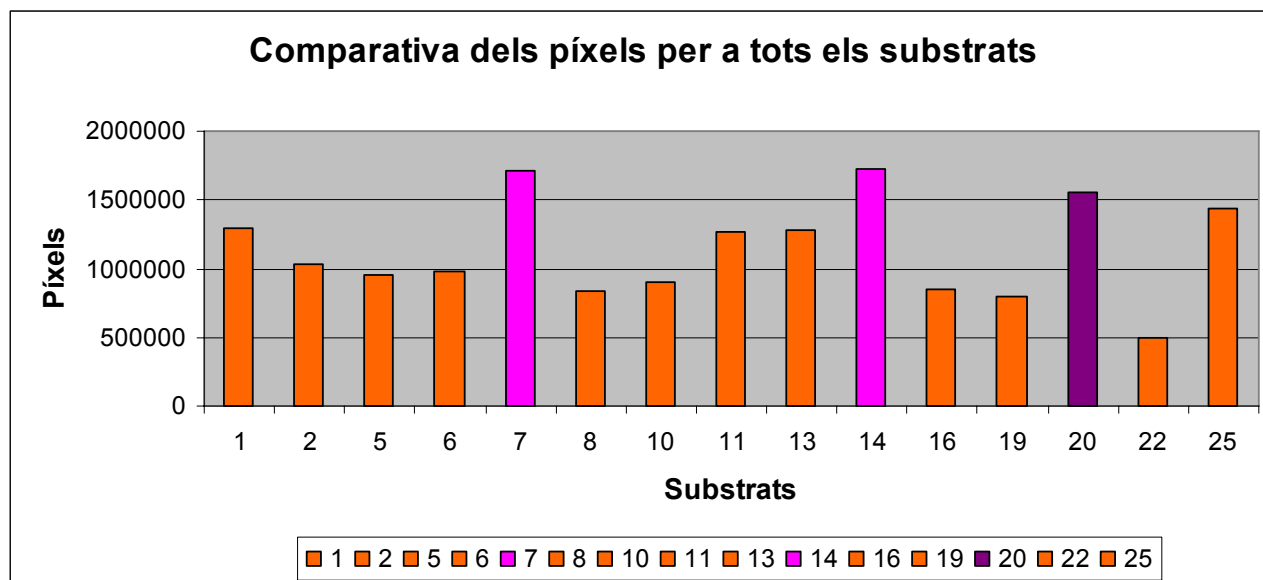
Gràfic 1: Comparació de les mitjanes dels píxels de les quatre sessions fotogràfiques. (Dies transcorreguts des de la incubació).



En aquest histograma es va observar que el màxim creixement micel·liar es va donar en els substrats **nº 7** (poma+purí) i **nº 14** (palla+poma). Aquestes dues combinacions destaquen per sobre de les altres, seguidament de la **nº 20** (palla+poma+purí).

El creixement micel·liar al llarg de les quatre sessions fotogràfiques no va ser regular, degut a que al realitzar les fotografies s'escollia la zona del pot a retractar a l'atzar, així que podien existir zones amb més creixement que d'altres.

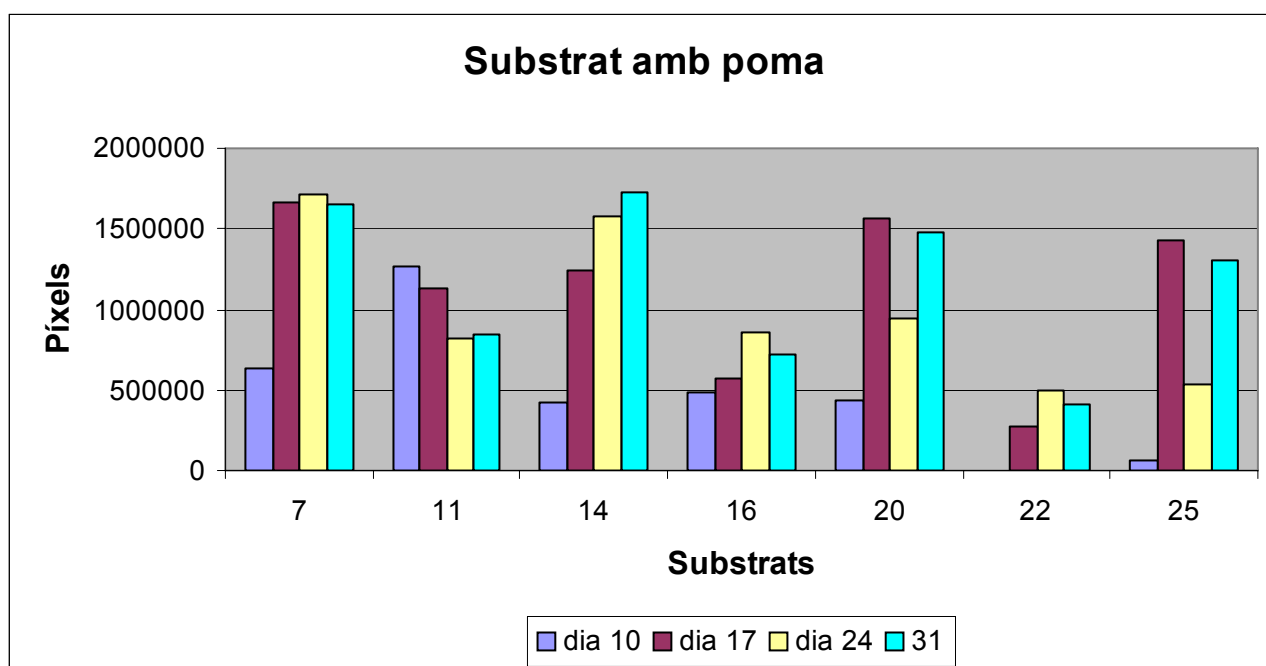
Gràfic 2: Comparació dels màxims dels píxels de les quatre sessions fotogràfiques.



Aquest histograma reflexa el nombre de píxels màxim (de les quatre sessions) de cada substrat. Es pot apreciar que els valors més elevats es tornen a donar en els substrats **nº 7 i nº 14** i seguidament del substrat **nº 20**.

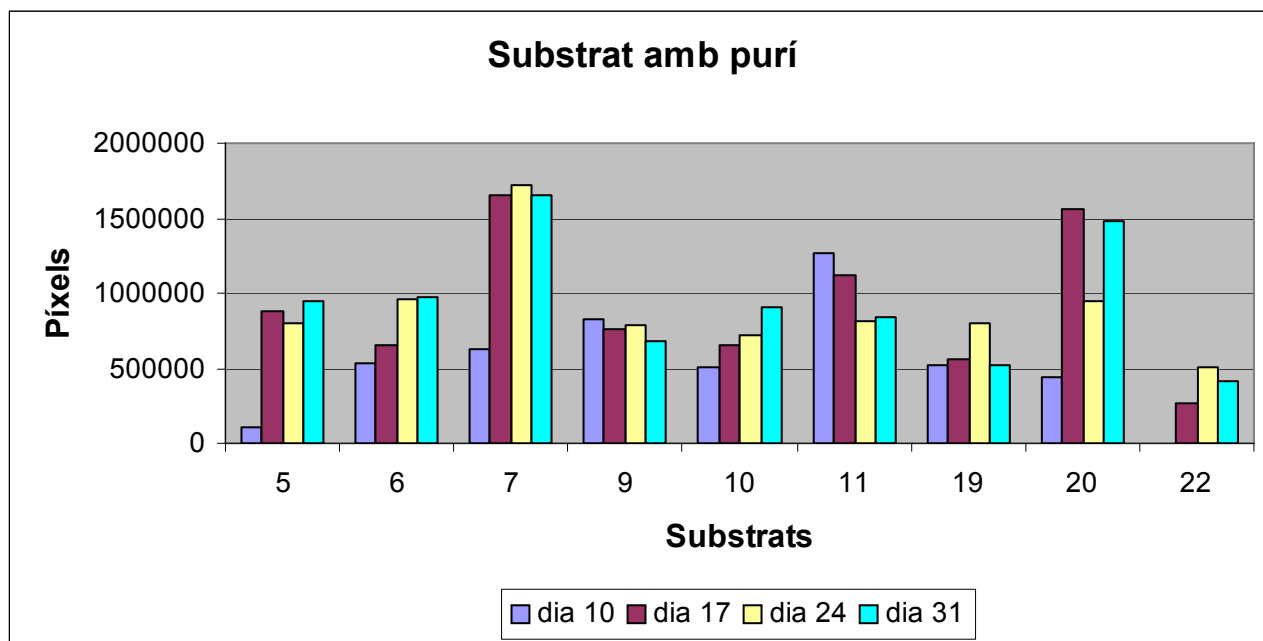
A partir d'aquests dos histogrames, es va observar que els substrats que contenien poma, presentaven un creixement micel·liar més important, i que les combinacions poma+purí i palla+poma eren les que obtenien els valors més elevats; degut a això es van realitzar altres histogrames específics d'aquests substrats:

Gràfic 3: Creixement micel·liar (quantificat en píxels de micel·li respecte a píxels totals) de les combinacions que contenen poma durant les quatre sessions fotogràfiques. (Dies transcorreguts des de la incubació).



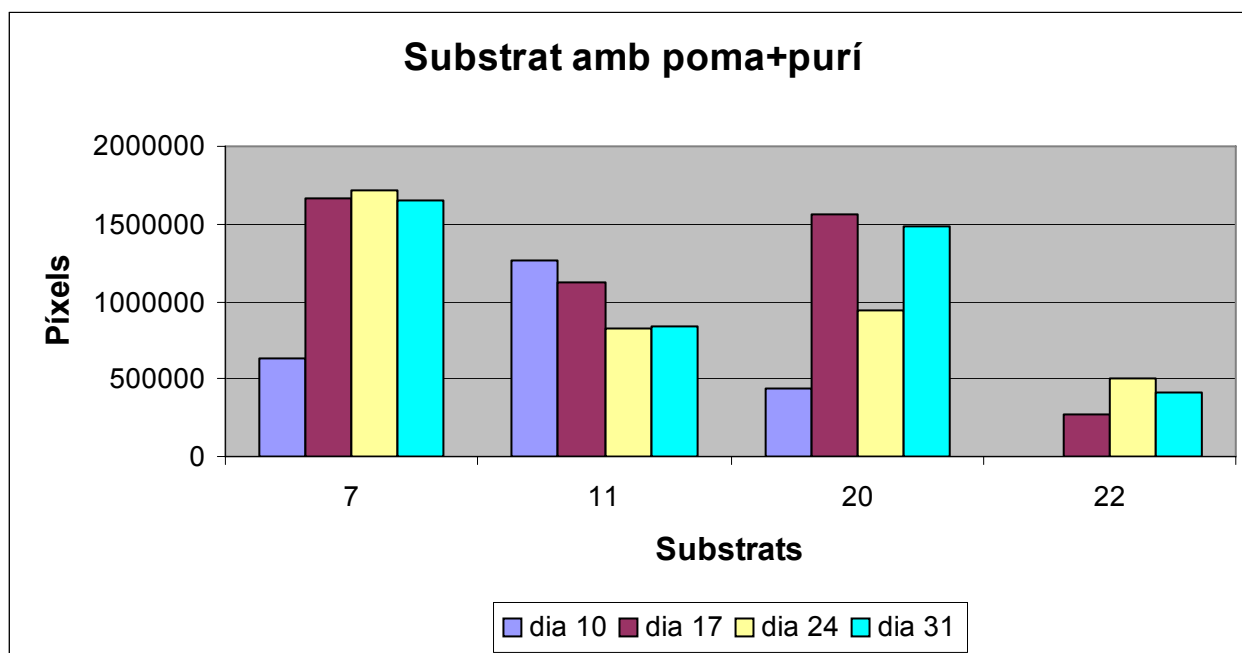
Aquest histograma reflexa els substrats que contenen poma. Es torna a observar que els substrats amb el creixement més elevat són el nº 7 i el nº 14. El substrat que té un inici de colonització més elevat es el nº 11 (poma + puri) i el que té el valor més elevat de recobriment total és la combinació nº 14.

Gràfic 4: Creixement micel·liar (quantificat en píxels de micel·li respecte a píxels totals) de les combinacions que contenen purí durant les quatre sessions fotogràfiques. (Dies transcorreguts des de la incubació).



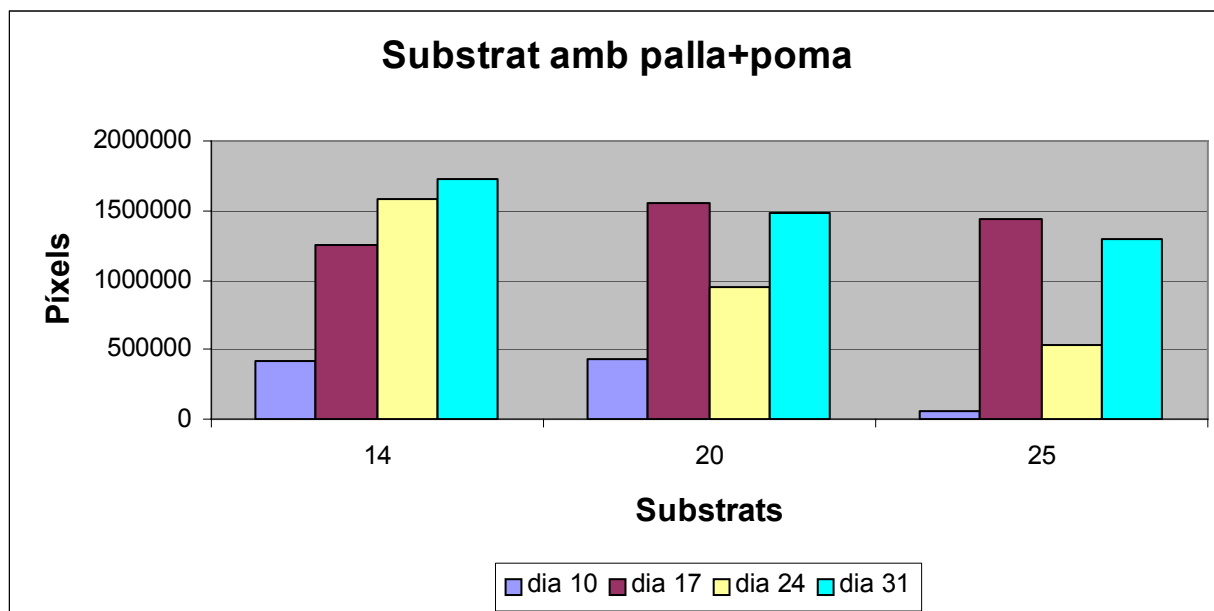
Aquest histograma reflexa els substrats que contenen purí. La majoria de combinacions tenen valors baixos respecte al histograma anterior, el seu creixement és inferior als substrats amb poma, els seus valors oscil·len al voltant de 1.000.000 píxels. La combinació que obté el valor més elevat és la nº 7 que conté poma, seguida de la nº20 que també en conté.

Gràfic 5: Creixement micel·liar (quantificat en píxels de micel·li respecte a píxels totals) de les combinacions que contenen poma+purí durant les quatre sessions fotogràfiques. (Dies transcorreguts des de la incubació).



Aquest histograma mostra els substrat que contenen la combinació poma + purí, es torna a observar que la combinació nº 7 es la que n'obté els valors més elevats, i presenta un creixement més regular, seguidament en trobem la combinació nº 20 en la que es pot apreciar un creixement important a la segona sessió fotogràfica.

Gràfic 6: Creixement micel·liar (quantificat en píxels de micel·li respecte a píxels totals) de les combinacions que contenen poma+purí durant les quatre sessions fotogràfiques. (Dies transcorreguts des de la incubació).



Aquest histograma ens indica els substrats que tenen la combinació palla + poma. Es trona a observar (com en gràfics anteriors) que la combinació que presenta valors més elevats és la n° 14 (també presenta un creixement micel·liar regular) i seguidament, la combinació n° 20.

Aquests resultats van precedir als resultats de la producció i creixement de bolets, que van ésser els que anteriorment s'han anomenat com a òptims. Aquests resultats es poden apreciar a la taula següent on consten les dades mitjanes de pesos i mesures de cada combinació.



Taula 10: Producció de bolets i característiques morfològiques.

SOCA	LONG peu (mm)	LONG cap (mm)	Ø Cap 1 (mm)	Ø Cap 2 (mm)	Ø Cap Mig (mm)	PES hum (g)	PES sec (g)
1H9	29,25	25	27	20,25	23,625	2,79	0,62
5 H9	33,5	28,75	32,5	29,75	31,125	6,04	0,98
7 H9	34,17	34,7	39	29,7	34,3	11,92	2,68
9 H9	37	37	22	29	25,5	1,76	0,6
10 H9	36,75	22,25	26	28	27	4,18	1,71
13 H9	19	31,5	34,5	21,5	28	2,36	0,29
14 H9	42,5	72,5	93	67,5	80,25	29,69	1,96
16 H9	23	45	45	17	31	6,85	0,89
19 H9	24,25	22	30,25	31,5	30,875	5,24	0,73
20 H9	37	47,5	50	43,5	46,75	11,02	1,57
22 H9	33	30	39	35	37	3,03	1,43
25 H9	33	38	54	48	51	7,69	1,04
29 H9	30	68	68	50	59	11,27	0,53

En la taula 10 es poden apreciar les combinacions que van produir bolets, les seves mesures mitjanes (longitud del peu, longitud del cap, el diàmetre, el pes fresc i el pes sec). Com s'ha comentat anteriorment aquestes dades són les mitjanes de tots els pots que van produir bolets, de cada combinació s'ha fet la mitjana de les mesures i la suma dels pesos.

Com es pot apreciar a la taula anterior, la combinació que va donar la producció més elevada en quant a mides del bolet i a pesos va ser la **nº 14** (palla + poma), coincidint també amb els resultats de creixement micel·liar més importants.

4.2. Valoració quantitativa

Amb els resultat obtinguts es va realitzar un estudi estadístic (paquet estadístic SAS) per a comprovar si les diferències qualitatives observades anteriorment tenien una diferència significativa.

Es van fer ANOVES considerant diferents fonts de variació com eren: el substrat (en general), amb presència de poma, amb presència de purí, amb presència de palla, amb presència d'encenalls i amb la combinació de dues o de tres. Tot això per les variables longitud del peu, longitud del cap, diàmetre mig, pes fresc o el pes sec.

A continuació s'adjunten les taules de resultats d'aquests tractaments estadístics:

Taula 8: ANOVA considerant la font de variació Substrat (9 nivells) per la variable **pes fresc en g**

Font de variació	Graus de llibertat	\sum quadrats	Quadrats mitjans	Valor de F	Pr> F
Substrat	8	285,8481939	35,7310242	5,22	0,009

Com es pot observar a la taula anterior, la font de variació és el substrat en general (9 nivells). S'ha buscat si existeix diferència significativa entre tots els substrats que participen a l'estudi i respecte a la variable **pes fresc**, si que n'ha trobat, ja que, com es pot observar la **$P \leq 0,05$** i això vol dir que el substrat és un factor de variació significatiu. Aquest estudi es va realitzar també amb les altres variables (longitud del peu, longitud del cap, diàmetre mig i pes sec) i no es va trobar significació inferior a 0,05.

Taula 9: ANOVA considerant la font de variació Poma (2 nivells: presència i absència) per la variable **longitud cap en cm**

Font de variació	Graus de llibertat	\sum quadrats	Quadrats mitjans	Valor de F	Pr> F
Poma	1	2042,784211	2042,784211	8,61	0,0093

Taula 10: ANOVA considerant la font de variació Poma (2 nivells: presència i absència) per la variable **diàmetre mig en cm**

Font de variació	Graus de llibertat	\sum quadrats	Quadrats mitjans	Valor de F	Pr> F
Poma	1	2478,626645	2478,626645	7,82	0,0124

Taula 11: ANOVA considerant la font de variació Poma (2 nivells: presència i absència) per la variable **pes fresc en g**

Font de variació	Graus de llibertat	\sum quadrats	Quadrats mitjans	Valor de F	Pr> F
Poma	1	106,480365	106,480365	7,3	0,0151

Taula 12: ANOVA considerant la font de variació Poma (2 nivells: presència i absència) per la variable **pes sec en g**

Font de variació	Graus de llibertat	\sum quadrats	Quadrats mitjans	Valor de F	Pr> F
Poma	1	0,65746251	0,65746251	4,66	0,0456

A les taules anteriors (9, 10, 11 i 12) la font de variació considerada és la mateixa, la presència o absència de poma al substrat, i com es pot observar, l'efecte va ser significatiu en les variables **longitud del cap**, **diàmetre mig**, **pes fresc** i **pes sec** (la **$P \leq 0,05$** i com s'ha comentat anteriorment indica que si que existeix diferència). En canvi, no ho va ser al 95 % per la variable longitud del peu, ja que $P = 0,0820$.

Es va realitzar l'estudi amb altres fonts de variació com podien ser la presència o absència de **purí**, de **palla** i d'**encenalls**, i amb cap de les variables es va trobar diferència significativa.

Es va tornar a fer tot el procés combinant diferents components del substrat (considerant sempre la presència o absència de poma) com eren **poma/purí**, **palla/poma**, **encenalls/poma** i una combinació de **poma/palla/purí** i **poma/encenalls/purí**. En cap cas es van trobar diferències significatives. Les taules 13 i 14 són un exemple de les combinacions **poma/purí** i **palla/poma**, i com es pot observar el valor de P de la combinació és superior a 0,05.

Taula 13: ANOVA considerant les fonts de variació principals Poma i Purí (2 nivells cadascuna) i la interacció per la variable **diàmetre mig en cm**

Font de variació	Graus de llibertat	\sum quadrats	Quadrats mitjans	Valor de F	Pr> F
Poma	1	2821,027424	2821,027424	11,09	0,0046
Purí	1	582,621174	582,621174	2,29	0,1509
Poma/Purí	1	1050,902424	1050,902424	4,13	0,0602

Taula 14: ANOVA considerant les fonts de variació principals Palla i Poma (2 nivells cadascuna) i la interacció per la variable **longitud peu en cm**

Font de variació	Graus de llibertat	\sum quadrats	Quadrats mitjans	Valor de F	Pr> F
Palla	1	42,5246914	42,5246914	0,51	0,4872
Poma	1	62,9691358	62,9691358	0,75	0,3997
Palla/Poma	1	164,0061728	164,0061728	1,96	0,1822

Un cop obtingudes les ANOVES es va procedir a realitzar la separació de mitjanes en els casos que la font de variació provada hagués estat significativa ($P < 0,05$). Els resultats es presenten a les taules 15 i 16.

Taula 15: Valors mitjans de producció (g de pes fresc) considerant la presència/absència de diferents components del substrat (n correspon al nombre de mostres).

	Poma*		n	Purí		n	Palla		n	Encenalls		n
Presència	6,702	A	9	3,4	A	11	4,631	A	14	2,309	A	8
Absència	1,961	B	10	5,316	A	8	3,02	A	5	5,587	A	11

* Per cada columna, els valors amb la mateixa lletra no són significativament diferents a una $P = 0,05$ (Student Newman Keuls).

Taula 16: Valors mitjans de producció (g de pes sec) considerant la presència/absència de diferents components del substrat (n correspon al nombre de mostres).

	Poma*		n	Purí		n	Palla		n	Encenalls		n
Presència	0,806	A	9	0,697	A	11	0,514	A	14	0,4713	A	8
Absència	0,433	B	10	0,489	A	8	0,878	A	5	0,71	A	11

* Per cada columna, els valors amb la mateixa lletra no són significativament diferents a una $P = 0,05$ (Student Newman Keuls).

Com es pot observar a les taules anteriors (15 i 16) únicament les mitjanes dels substrats que contenen poma es diferencien estadísticament dels que no en contenen. Per la resta de components dels substrats, les mitjanes no es diferencien.

4.3. Discussió final

Com podem observar en els resultats obtinguts, la poma és el component més important del substrat per una creixement i una producció òptima de gírgoles, per tant, s'han comparat els components bàsics que necessita un fong per alimentar-se i els components de la poma.

Taula 17: Llistat de substrats que proporcionen la font de carboni necessària per la majoria dels fongs. (R.C. Cooke; J.M. Whipps. *Ecophysiology of Fungi*,1993).

FONGS	Substrats assimilables per la majoria dels fongs
	Glucosa, fructosa, xilosa
	Àcids orgànics
	Midó
	Hemicel·lulosa, cel·lulosa
	Pectines
	Lípids
	Lignina

Taula 18: Components de la poma. (Amalia Neira E., *La manzana y su valor nutritivo*).

POMA	Components de la poma (principalment la fibra)
	Gomes (manosa, arabinosa, xilosa...)
	Pectines
	Hemicel·lulosa, cel·lulosa
	Glucosa
	Lignina

Com podem observar a les taules anteriors, la poma compleix molts del requisits nutricionals dels fongs, i per tant no és estrany que hagi resultat ser un bon substrat per a produir bolets.

5. CONCLUSIONS

Dels les diferents combinacions de substrats utilitzades per provar quina o quines incideixen en el creixement i la producció de *Pleurotus ostreatus* H9 de manera significativa i destacada, podem concloure que:

1. Els substrats que contenen poma són els que donen més bons resultats, ja que han donat un creixement micel·liar més elevat i una producció de bolets superior a la de la resta de substrats.
2. La presència de poma al substrat, combinada amb altres elements, augmenta significativament la producció de gírgoles.
3. No s'han trobat diferències estadísticament significatives entre substrats formats bàsicament per palla o bàsicament per encenalls, ni pel què fa al creixement ni pel què fa a la producció. Les combinacions de poma/purí, palla/poma i palla/poma/purí han obtingut un creixement micel·liar i una producció de bolets elevada amb unes característiques de forma desitjables.
4. Els substrats que contenen pasta de soja no han permès la producció i, en molts casos, ni tan sols el creixement del fong. La presència de purí no afecta ni el creixement micel·liar ni la producció en la soca H9 provada.

6. BIBLIOGRAFIA

- 1 Alexopoulos, Constantine J.; Hims, Charles W. *Introducción a la Micología*. Barcelona: Omega, 1985. ISBN 84-282-0747-X.
- 2 Asociación Micológica El Rojo. *Pleurotus ostreatus*. [en línia] Soria, octubre 2003 [Consulta: Desembre 2006]. Disponible a: <http://www.amanitacesarea.com/pleurotus-ostreatus.html>.
- 3 Cooke, R.C.; Whipps, J.M. *Ecophysiology of Fungy*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1993. ISBN 0-632-02168-3.
- 4 Deacon, J.W. *Modern Mycology*. 3^a ed. Oxford: Blackwell Science, 1997. ISBN 0-632-03077-1.
- 5 García Rollán, Mariano. *Cultivo de Setas y Trufas*. Barcelona: Ediciones Mundi-Prensa, 1998. ISBN 84-847-6083-9.
- 6 Infoagro.com. *Cultivo Industrial de setas*. [en línia], Espanya, [Consulta: Desembre 2006]. Disponible a: <http://www.infoagro.com/forestales/setas.asp>.
- 7 Llimona, Xavier. *Hongos*. A: Izco, J. [et al.] *Botánica*. 2^a ed. Barcelona: McGraw-Hill, 2004, p. 213-285. ISBN 84-486-0609-4.
- 8 Moreno, Gabriel; Garcia Manjon Jose luis; Zugaza, Álvaro. *La guía de Incafo de los hongos de la península ibérica Tomo 1*. Madrid: Incafo S.A., 1986. ISBN 84-85389-44-1.
- 9 Pascual, Ramon. *Guia dels bolets dels Països Catalans*. 3^a ed. Barcelona: Pòrtic Natura, 2003. ISBN 84-7306-942-0.



- 10 SAS Institute Inc. (1999). SAS OnlineDoc®, Version 8, Cary, NC: SAS Institute Inc.
- 11 Xarxa Telemàtica Educativa de Catalunya, Camp d'aprenentatge de l'Alt Berguedà. *Els Fongs i els Bolets*. [en línia], [Consulta: Desembre 2006]. Disponible a: <http://www.xtec.es/cda-altbergueda/recursos/bolets.doc>.